Serologische und fluoreszenzoptische Untersuchungen an tumortragenden Ratten

Transplantation von Yoshida Tumor

---

von

Karin Günther

aus Lodz

1967

1967 W 903

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535718_0064

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Prof. Dr. med. F. Scheiffarth

Serologische und fluoreszenzoptische Untersuchungen an tumortragenden Ratten

Transplantation von Yoshida Tumor

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Karin Günther
aus Lodz

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent: Prof. Dr. med. F. Scheiffarth
Dekan: Prof. Dr. med. K. G. Ober
Tag der mündlichen Prüfung: 22. 7. 1967

Inhalt.

A) Einleitung

B) Tiermaterial, Versuchsanordnung und Methodik.
- I. Tiermaterial
- II. Versuchsanordnung
  1. Sensibilisierungsschema
  2. Papierelektrophorese
  3. Immunoelektrophorese
  4. Hämagglutinations- und Praezipitationsreaktion
  5. Fluoreszenzoptische Untersuchungen
- III. Methodik
  1. Aufbereitung des Tumormaterials
  2. Herstellung der Antiseren
  3. Papierelektrophorese
  4. Immunoelektrophorese
  5. Hämagglutinationsreaktion
  6. Praezipitationsreaktion
  7. Fluoreszenzoptische Untersuchungen

C) Ergebnisse.
- I. Charakterisierung des Tumors
- II. Befunde bei der Gewinnung der Antiseren
  1. Sensibilisierung mit DNS
  2. Sensibilisierung mit Tumorextrakt
- III. Beobachtungen bei den Tieren des Hauptversuches nach Transplantation.
- IV. Papierelektrophoretische Befunde
- V. Immunoelektrophoretische Befunde
- VI. Hämagglutinationsergebnisse
- VII. Praezipitationsergebnisse
- VIII. Ergebnisse der fluoreszenzoptischen Untersuchungen

D) Diskussion.

E) Zusammenfassung.

Einleitung

Tierexperimentelle Ergebnisse und klinische Erfahrungen auf dem Gebiet der Tumorimmunologie sind seit der Jahrhundertwende, d.h. seit den ersten Bemühungen PAUL EHRLICHS und PEYTON ROUS' um einen Nachweis von spezifischen Antikörpern tumortragender Individuen, immer wieder Ausgangspunkt großzügig und von verschiedenen Aspekten aus angelegter Untersuchungen geworden. Die hypothetische Grundlage all dieser Forschertätigkeit fußt auf der Vorstellung, daß Tumoreiweiß, auch wenn es nicht transplantiert, sondern im eigenen Körper entwickelt wurde, infolge seiner Strukturunterschiedlichkeit zu den Eiweißkörpern des Wirts bzw. des Muttergewebes Antigenität entfaltet und somit einen Sensibilisierungsvorgang induziert. Die nahezu unübersehbare Literatur weist eine Reihe positiver Reaktionen des Tumorträgerserums gegen das spezifische Tumoreiweiß auf, (1, 2, 5, 7, 8, 9, 12, 15, 16, 17, 18, 20, 28, 30, 34, 35, 39, 40, 43, 55, 57, 58, 61) ungeachtet dessen, welche Nachweismethoden im einzelnen angewandt wurden. Andererseits haben die Bemühungen um das Problem der Tumorimmunologie unter Berücksichtigung der verschiedenen Versuchsanordnungen zu keinen eindeutigen Ergebnissen geführt. (6, 11, 33, 36, 48, 58, 60).

Somit scheint mit Bezug auf Art des Tumors, Art des Tumorträgers und insbesondere auch der jeweiligen Nachweismethode von Antikörpern auch das Resultat von Versuchsanordnung zu Versuchsanordnung unterschiedlich auszufallen. Hinzu kommt, daß vor allem die Erfahrungen in der Humanpathologie sicher objektivierbare immunologische Phänomene beim krebskranken vermissen lassen. Daraus ist abzuleiten, daß die oben erwähnte Hypothese eines Immunisierungsprozesses in einem von malignem Tumor befallenen Organismus insoferne nicht aufrecht zu erhalten ist, als die bisherigen experimentellen und klinischen Befunde keine sicher verwertbaren Gesetzmäßigkeiten erkennen lassen. Insbesondere konnten auch Versuche mit spezifischen Tumorantiseren zu keinen überzeugenden blockierenden Wirkungen eines einmal induzierten Tumorwachstums führen, auch wenn vereinzelte tierexperimentelle Studien bemerkenswerte Phänomene gezeigt haben (4, 21, 24, 26, 33, 37, 42, 45, 46, 47, 59). Schwierigkeiten bereitet in solchen Fällen u.a. auch die Interpretation von Befunden, die zwar entsprechend der gewählten Versuchsanordnung den Ergebnissen immunologischer Reaktionen gleichkommen müßten, möglicherweise aber einem völlig unspezifischen Effekt zuzuschreiben sind. Es bedarf mit anderen Worten einer sorgfältigen Prüfung, ob und in welchem Umfange immunologische Reaktionen in einem tumortragenden Organismus Bedeutung erlangen, insbesondere aber, inwieweit

solche Reaktionen zu der Hoffnung berechtigen, sie therapeutisch auszunutzen. Zweifellos stellte es eine enorme Bereicherung in der Krebsbehandlung dar, wenn es gelänge, das Tumorwachstum durch spezifische Antisera zu blockieren.

In vorliegender Arbeit sollte an Hand von verschiedenen tierexperimentellen Untersuchungsreihen mit neueren immunologischen und serologischen Methoden geprüft werden, inwieweit bei transplantablen Tumoren der Ratte, hier Yoshida Sarkom, einerseits im Trägerorganismus Antikörper gegen die akzeptierten Tumorproteine gebildet werden, andererseits das Tumorwachstum durch verschiedene immunologisch deutbare Reaktionen beeinflußt werden kann.

Tiermaterial, Versuchsanordnung und Methodik.

Tiermaterial

Die tierexperimentellen Untersuchungen wurden an 30 weißen Wistarratten+ vorgenommen. Die Tiere wurden für die verschiedenen einzelnen Fragestellungen in 3 Gruppen zu je 5, 10 bzw. 15 Ratten eingeteilt.

Versuchsanordnung

Eine erste Gruppe von 5 Ratten wurde als Trägertiere für Tumortransplantation ohne weitere Behandlung vorgesehen.

Einer zweiten Gruppe von 10 Tieren wurde zunächst ein

+) Wistar- Inzuchtratten, Hannover

Anti-DNS-Serum vom Kaninchen (s.u.) nach folgendem Modus i.p. appliziert: Bei 5 Tieren wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen pro Tier und Injektion 0,5 ml i.p. appliziert; bei 5 anderen Tieren wurden ebenfalls pro Tier und Injektion 0,5 ml i.p. injiziert, hier jedoch insgesamt sechs Injektionen jeden zweiten Tag. Die Transplantation lebender Tumorzellen erfolgte am zweiten Tag nach Versuchsbeginn.
Eine dritte Gruppe von 15 Ratten wurde mit einem spezifischen Antitumorserum vom Kaninchen (s.u.) vorbehandelt und anschließend mit Tumorzellen beschickt. Hierbei wurden zwei verschiedene Modi der Behandlung mit dem spezifischen Antiserum gewählt:
10 Tiere erhielten pro Tier und Injektion 0,5 ml des spezifischen Antiserums viermal unter Auslassung eines behandlungsfreien Tages i.p. appliziert. Unmittelbar danach wurde der Tumor transplantiert, die Antiserumapplikation noch einmal vorgenommen und dann abgesetzt.
5 Tieren wurde insgesamt über einen Zeitraum von 24 Beobachtungstagen zwölfmal pro Tier und Injektion 0,5 ml des spezifischen Antiserums i.p. appliziert. Die Tumorübertragung erfolgte gleichzeitig mit der vierten Injektion.(Abb. 1)
Vor Versuchsbeginn wurde sämtlichen Tieren Blut entnommen, das Serum papierelektrophoretisch, immunoelektrophoretisch, außerdem auf unspezifische Agglutinations- sowie Praezipitationsreaktion gegen Tumorextrakt ge-

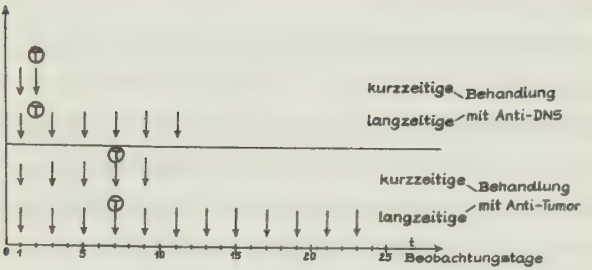


Abb. 1: Sensibilisierungsschema.
T = Tumortransplantation.

prüft. Bei den folgenden Kontrollen wurden die gleichen Analysen vorgenommen. Außerdem wurden am Ende der Beobachtungszeit fluoreszenzserologische Untersuchungen an Schnitten der transplantierten Tumoren mit einem gepoolten, fluoresziierten Serum der im Versuch gestandenen Ratten sowie mit fluoresziiertem Antitumorserum vom Kaninchen angestellt.

Methodik

1. Aufbereitung des Tumormaterials und Transplantationsmodus

Tumorgewebe wurde einem tumortragenden Tier nach Tötung im Chloroformrausch operativ entnommen, sorgfältig von peritumoralem Gewebe und Bindegewebe abpräpariert, kurzfristig in aqua dest. gewässert und sodann durch die Embryonenpresse getrieben. Das so gewonnene Zellsubstrat wurde im Verhältnis 1:4 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt. Diese Tumorzellsuspension wurde nun unter Wahrung steriler Kautelen in die Gegend der Nackenmuskulatur bis an das Sarkolemm injiziert.

2. Herstellung der Antiseren:

a) Anti-DNS-Serum:

3 Kaninchen wurden mit folgender Lösung sensibilisiert:

Aufbereitung der DNS-Lösung: 0,4 g DNS in 25 ml NaCl + 14 ml 1/n NaOH lösen.

Der Sensibilisierungsmodus bestand in einer ersten

intramuskulären Injektion einer Mischung aus 2 ml DNS-Lösung und 4 ml Freundschem Adjuvant; sowie in einer subcutanen Injektionsserie von 5 aufeinanderfolgenden Injektionen mit je 0,5 ml der DNS-Lösung pro Tier und Injektion. Nach einem Intervall von 21 Tagen seit der Erstinjektion wurden jeden zweiten Tag, insgesamt siebenmal, 2 ml der DNS-Lösung pro Tier und Injektion appliziert, schließlich wurde nach 5 Wochen seit Sensibilisierungsbeginn den Kaninchen in größeren Mengen Blut abgenommen. Nach mehrstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde das überstehende Serum abpipettiert, zentrifugiert (20 Minuten bei 3000 Umdrehungen) und das klare Anti-DNS-Serum vom Kaninchen in kleinere Portionen abgefüllt und in der Tiefkühltruhe+ bei -20°C eingefroren.

Während der Sensibilisierung wurden mehrfach Agglutinations- und Praezipitationsreaktionen des Kaninchenserums gegen die verwendete Antigenlösung vorgenommen, wobei aus deren Ergebnissen der weitere Injektionsmodus abgeleitet wurde.

b) Antitumorserum:

Aufbereitung der Antigenlösung: (Tumorhomogenat)
Der kurzfristig gewässerte Tumor, der w.o. präpariert worden war, wurde grob zerkleinert, nach Zusatz von 4 Teilen physiologischer NaCl-Lösung mit dem Ultraturraxgerät++ (1500 Umdrehungen/min) homo-

---

+) BBC-Tiefkühltruhe, ++) Jahnke u. Kunkel AG, Fabrik chem.-phys. Apparate, Staufen i. Br.

genisiert. Der so gewonnene Extrakt wurde als Antigensuspension verwendet. Es wurden zwei Kaninchen mit dem Homogenat des Tumorgewebes in folgender Weise behandelt:

Eine erste Injektion erfolgte mit je 4 ml des Tumorhomogenats i.m.; eine zweite folgte im Abstand von sechs Tagen in gleicher Weise und fortan noch viermal im gleichen Intervall und in adäquater Menge. Eine erste Kontrolle erfolgte 8 Tage nach Erstinjektion, weitere folgten in Abständen von je einer Woche. Auf Grund der positiven Ergebnisse (ausreichender Antikörpernachweis) wurden größere Mengen Blutes erstmalig für Antiserumdarstellung (s.o.) nach 18 Tagen seit Sensibilisierungsbeginn entnommen. Darüberhinaus wurden jeweils 4, 5, 6 Wochen nach Behandlungsbeginn ebenfalls größere Blutentnahmen zur Antikörpergewinnung vorgenommen.

3. Papierelektrophorese:

Die Papierelektrophorese wurde in üblicher Weise nach den Angaben von GRASSMANN und HANNIG (29, 32, 52) vorgenommen. Die technischen Einzelheiten , die inzwischen zu einer Routinemethode geführt haben, mögen dem einschlägigen Schrifttum entnommen werden.

4. Immunoelektrophorese:

Es wurde im Prinzip nach dem Verfahren von GRABAR und WILLIAMS (23, 27) bzw. in der abgewandelten Mikromethode nach SCHEIDEGGER (51) vorgegangen. Unter-

sucht wurden im einzelnen die Rattenseren der verschiedenen Gruppen unter Verwendung eines spezifischen Rattenserums+. Außerdem wurde der Tumorextrakt gegen sein spezifisches Antiserum sowie gegen die Seren tumortragender Ratten immunelektrophoretisch analysiert.

5. Hämagglutinationstechnik nach BOYDEN (10):
Es wurde die Orginaltechnik in geringfügiger Abwandlung (53) verwandt. Die Methode wurde eingesetzt zum Nachweis agglutinierender Antikörper gegen Tumorextrakt in den verschiedenen Rattenseren; sie wurde außerdem in den Kaninchenversuchen bei der Gewinnung der spezifischen Antiseren vorgenommen. Auch Rattenserum wurde auf agglutinierende Antikörper gegen Kaninchenserum (Anti-Tumorserum) mit ihr geprüft.

6. Zweidimensionale Immunodiffusion in Agargel:
Hier wurde prinzipiell nach den Angaben von OUCHTERLONY (44, 62) vorgegangen. Mit dieser Technik wurden sämtliche Tierseren auf Praezipitine, je nach Fragestellung, analysiert. (s.Versuchsanordnung)

7. Fluoreszenzserologische Untersuchungen:
Die fluoreszenzserologischen Untersuchungen wurden nach einer Modifikation des von COONS angegebenen Verfahrens (13, 14, 25, 41) vorgenommen. Zur Markierung der γ - Globuline, die aus den bei der letzten Blutentnahme gewonnenen Kaninchenseren mittels Ammoniumsulfatfällung abgetrennt wurden, wurde Fluorescein-

---

+) Plasma-Protein-Antisera (Anti-Ratte-Serum vom Kaninchen; Op Nr 641 Q) Behringwerke, Marburg/Lahn.

isothiocyanat in einer Dosierung von 0,01 mg/mg Eiweiß verwendet. Die Reinigung der markierten Seren erfolgte durch Dialysierung gegen gepufferte physiologische NaCl-Lösung sowie durch Trennung der Seren an der DEAE - Cellulosesäule mittels eines Kochsalzgradienten (GOLDSTEIN et al.). Von den eingefrorenen Tumorstücken wurden Gefrierschnitte von 7,5 μ Dicke im Kryostaten hergestellt und diese vor der Inkubierung mit den markierten Seren (30 Minuten bei 37° C im Brutschrank) fixiert und anschließend 20 Minuten gewässert. Die Auswertung der Präparate erfolgte mit einem Fluoreszenzmikroskop. Im einzelnen wurde die Fluoreszenz der Tumorzellen differenziert nach Cytoplasma und Zellkern. In Kontrollversuchen wurden ungefärbte Präparate auf Spontanfluoreszenz untersucht.

Ergebnisse.

I) Charakterisierung des Tumors.

Der zur Transplantation verwendete Tumor erwies sich histologisch als maligne, in die Muskulatur infiltrierende Geschwulst vom Typ eines Sarkoms, (Abb. 2).

Die Beurteilung des histologischen Präparates verdanken wir Herrn Prof. Dr. K. Elster (Path. Institut der Universität Erlangen-Nürnberg. Direktor: Prof. Dr. E. Müller.)

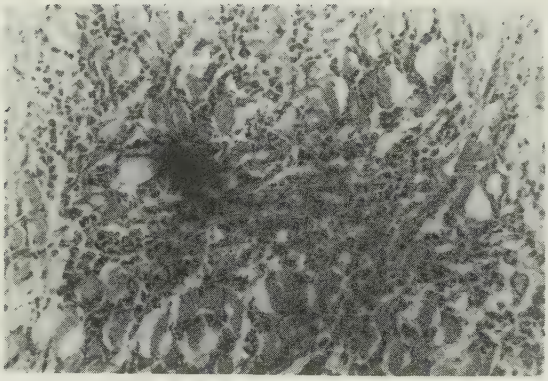


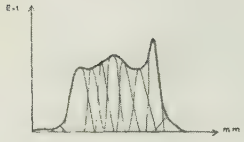
Abb. 2: Histologisches Bild des transplantierten Tumors.

Bei agarelektrophoretischer Trennung und Färbung mit Amidoschwarz 10B wurden zunächst 4 Eiweißkomponenten differnziert, unter welchen drei breite Komplexe imponieren, die ihrerseits jeweils in zwei Fraktionen unterteilt werden können, darüberhinaus konnte mindestens eine weit vor den Albuminen wandernde scharf begrenzte Proteinbande wahrgenommen werden. Ob unmittelbar vor den Albuminen eine weitere Komponente gelegen ist, oder ob es sich dabei um Diffusionseffekte der Albumine selbst handelt, kann schwer entschieden werden. Insgesamt konnten somit 7-8 Komponenten in dem Tumorextrakt differenziert werden.(Abb. 3a)
Die papierelektrophoretischen Ergebnisse mit dem gleichen Extrakt, d.h. derselben Konzentration des Tumorhomogenats, entsprechen, unter Berücksichtigung des unterschiedlichen Trägermediums, im Prinzip dem agarelektrophoretischen Ergebnis.(Abb. 3b)

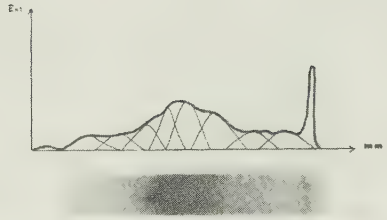
II) Befunde bei Gewinnung der Antiseren.

1. Sensibilisierung mit DNS:

Die Kaninchen, welche in der oben angegebenen Weise mit DNS behandelt wurden, zeigten papierelektrophoretisch bereits nach 26 Tagen eine deutliche Dysproteinämie mit Hypalbuminämie und relativem Anstieg vor allem der α_1 - Globuline. Hier fiel eine Zwischenfraktion zwischen Albumin und α_1 - Komponente auf. In den weiteren Kontrollen kam es zu einer Vertiefung dieser Dysproteinämie mit stärkerem prozentualem



a.



b.

Abb. 3: Elektrophoretische Auftrennung der Tumorproteine.
a) Agarelektrophorese
b) Papierelektrophorese

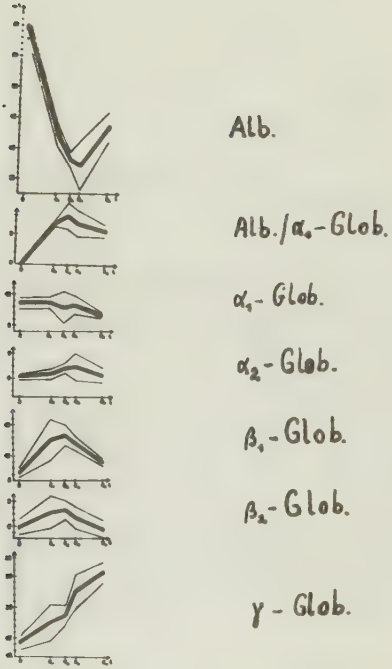


Abb. 4: Eiweißveränderungen im Serum der mit DNS sensibilisierten Kaninchen.

Papierelektrophoresen.

Mit Tumorextrakt behandelte Kaninchen:

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline					Agglutination	Praezipitation
			α_1	α_2	β_1	β_2	γ		
1	A: 6.12.65	62,17	8,99	7,49	9,74	2,62	8,99	ø	ø
	K1:11.12.65	59,44	8,83	6,42	9,24	4,82	11,24	1:4	ø
	K2:24.12.65	53,56	11,30	7,11	10,04	6,28	11,71	1:4	+
	K3:31.12.65	48,96	9,96	7,05	10,79	7,05	16,18	1:32	+
	K4: 8.1. 66	46,69	11,16	8,68	13,64	5,78	14,05	1:1024	+
	K5:17. 1.66	39,27	12,21	8,91	15,18	7,26	17,16	1:1024	+
2	A: 6.12.65	58,75	9,58	8,75	8,75	3,33	10,83	ø	ø
	K1:11.12.65	53,29	10,97	9,09	10,03	5,01	11,60	1:8	ø
	K2:24.12.65	46,18	10,91	7,64	12,73	9,45	13,09	1:64	+
	K3:31.12.65	51,87	10,37	8,07	11,81	4,90	12,97	1:64	+
	K4: 8. 1.66	49,59	9,09	7,02	14,88	5,37	14,05	1:1024	+

Tab. 2.

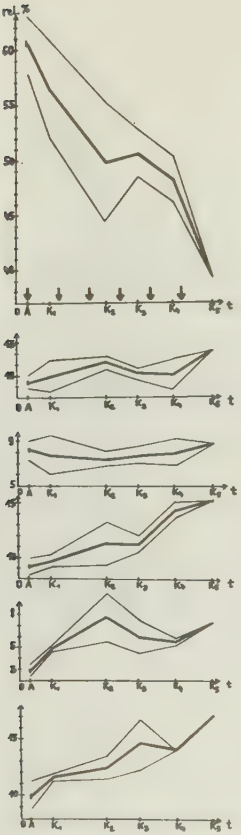


Abb. 5: Eiweißveränderungen im Serum der mit Tumorextrakt sensibilisierten Kaninchen.

nur schwach positiv, bei der zweiten Kontrolle mit Titern von 1:4, aber auch 1:64 bereits teilweise deutlich positiv, bei vierter und letzter Kontrolle mit Titern von 1:1024 stark positiv.(Tab. 2) Die Praezipitationsreaktion nach OUCHTERLONY ergab ab dritter Kontrolle regelmäßig deutliche Praezipitationslinien, die Zahl variierte zwischen zwei und maximal sieben.(Abb.6)

III) Beobachtungen an den Tieren des Hauptversuches nach Transplantation.

Trägertiere:

In der Gruppe der primär unvorbehandelten Ratten wurde nach Übertragung der Tumorzellen nach durchschnittlich 5 Tagen ein Angehen des Transplantats, d.h. eine etwa linsen- bis erbsengroße Tumorentwicklung wahrgenommen. Die Weiterentwicklung dieses in die Nackenmuskulatur infiltrierten malignen Tumors erfolgte von nunan zusehends, bereits nach insgesamt 8 Tagen, spätestens am 9. Tag, kam es entweder zu zentralen Ulcerationen oder bereits zum Exitus des tumortragenden Tieres.

Mit Anti-DNS behandelte Tiere:

Die mit Anti-DNS-Serum vom Kaninchen vor- bzw. gleichzeitig behandelten und mit Tumorextrakt infiltrierten Ratten zeigten ebenfalls am 5. Tag einen Erfolgstumor. Die Entwicklung dieses Transplantats erfolgte jedoch augenscheinlich retardiert, kirsch-

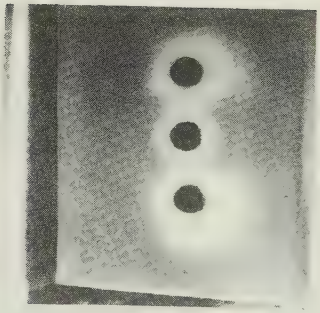


Abb. 6: Praezipitationsreaktion nach OUCHTERLONY bei Verwendung von Antitumorserum gegen Tumorextrakt.

große Tumoren konnten erst nach etwa 12 Tagen beobachtet werden.

In der Gruppe der kurzfristig mit Anti-DNS behandelten Ratten konnte die Überlebenszeit der Tiere bis zu 26 Tagen seit Transplantation verlängert werden, während in der Gruppe der mehrfach mit Anti-DNS injizierten Ratten bereits nach 13- 15 Tagen die Tiere ad exitum kamen.

Mit Anti-Tumor-Serum behandelte Tiere:

In der Gruppe der mit spezifischen Anti-Tumorserum vom Kaninchen vor- bzw. gleichzeitig behandelten und anschließend mit Tumorzellen transplantierten Tieren konnte unter den kurzfristig vorbehandelten Ratten ein Angehen des Tumors durchschnittlich am 5 Tag nach Transplantation beobachtet werden. Die Weiterentwicklung des Sarkoms erfolgte kontinuierlich bis zu einer optimalen Geschwulstbildung am 12. Tag nach Übertragung. Zu diesem Zeitpunkt kam es wiederum zu Ulcerationen oder/und zum Exitus.

Demgegenüber fiel in der Gruppe der viermal vorbehandelten und auch nach Transplantation mit Anti-Tumorserum injizierten Ratten trotz Angehen des Tumors ein verzögertes Wachstum und eine verlängerte Lebenszeit seit Transplantation auf.

3 dieser Versuchstiere überlebten insgesamt 3 Wochen seit Zellapplikation, bei zwei weiteren Tieren bildeten sich die flüchtig angegangenen Tumoren zurück, die

Ratten überlebten 8 Wochen, wurden dann aber zur Untersuchung des Serums ohne Grund getötet.

IV) Papierelektrophoretische Befunde der Tiere des Hauptversuches.

Trägertiere:

Die papierelektrophoretischen Befunde unbehandelter Albinoratten entsprechen dem bekannten Proteinmuster dieser Tierspezies: Es imponieren eine relativ stark konzentrierte Albuminfraktion, sowie eine Komponente mit der Wanderungsgeschwindigkeit von ß - Globulinen. Die α - Fraktionen lassen sich zumeist in drei Komponenten differenzieren. Das γ - Globulin stellt im allgemeinen eine breitere, insgesamt aber schwach konzentrierte Proteinfraktion dar.

Veränderungen am Serumpherogramm der tumortragenden Ratte:

Vergleicht man das Serumeiweißbild von Ratten, die mit Yoshida-Tumor geimpft wurden mit einem Pherogramm vor Transplantation, so zeigt sich nach einer Beobachtungsdauer von 9 Tagen eine tiefgreifende Dysproteinämie, die in einer starken Hypalbuminämie mit Anreicherung vor allem der α_1, α_2/ß und auch der ß - Globulinfraktion zum Ausdruck kommt. An der relativen Globulinvermehrung waren die α_2 - wie auch die γ - Globuline in nur geringem Umfange beteiligt. Die Albuminverminderung und Zunahme der α_1 - Globu-

line (α_2/ß und ß) konnte sowohl für die relativen Prozent als auch für die Grammprozent sehr wahrscheinlich statistisch gesichert werden.(Tab. 3a, b; Tab. 4a, b; Abb. 7; Abb. 8)

Mit Anti-DNS vorbehandelte tumortragende Tiere:
Die papierelektrophoretischen Befunde der Tiere dieser Gruppe zeigten insgesamt eine Dysproteinämie mit statistisch gesicherter Hypalbuminämie und relativer Vermehrung sämtlicher Globulinfraktionen, wobei vorwiegend die α_1 - sowie die γ - Globulinfraktionen an dieser Zunahme beteiligt sind.

In der Gruppe der Ratten, die längere Zeit, d.h. auch nach Transplantation des Tumors, mit Antiserum behandelt wurden, waren die Serumeiweißveränderungen zwar gleichsinnig wie in der ersten Gruppe, das Ausmaß der Dysproteinämie war jedoch tiefgreifender, insbesondere zeigte sich eine wesentlich deutlichere Hypalbuminämie und eine noch deutlichere Anreicherung der γ - Globuline.(Tab. 5a, b; Tab. 6a, b; Abb. 9; Tab. 7a, b; Tab. 8a, b; Abb. 10; Abb. 11)

Mit Anti-Tumor-Serum behandelte tumortragende Tiere:
Die papierelektrophoretisch faßbaren Serumeiweißveränderungen zeigten in beiden Untergruppen dieser Versuchsreihe wiederum eine deutliche Dysproteinämie, wobei die Verminderung der Albumine und

Papierelektrophoresen.

Trägertiere.

a.Relative Prozent

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 3.12.65 E:10.12.65	49,45 29,94	16,48 19,16	8,06 8,38	7,33 14,37	14,28 17,96	4,39 10,18
2	A: 3.12.65 E:10.12.65	51,59 39,24	15,08 15,82	8,73 8,86	4,76 12,03	13,10 17,72	6,75 6,33
3	A: 6.12.65 E:17.12.65	56,73 29,32	11,84 14,66	6,53 12,04	4,90 13,09	13,06 21,46	6,94 9,42
4	A:10.12.65 E:19.12.65	45,71 48,40	11,11 8,80	8,25 8,40	6,03 8,00	20,32 20,80	8,57 5,60
5	A:23.12.65 E: 5. 1.66	50,00 35,29	13,13 17,64	6,56 11,03	5,55 11,75	19,70 15,44	5,05 8,82

b.Grammprozent.

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 3.12.65 E:10.12.65	3,06 1,86	1,02 1,19	0,50 0,52	0,45 0,89	0,89 1,11	0,27 0,63
2	A: 3.12.65 E:10.12.65	3,20 2,43	0,93 0,98	0,54 0,55	0,29 0,75	0,81 1,10	0,42 0,39
3	A: 6.12.65 E:17.12.65	3,52 1,82	0,73 0,91	0,40 0,75	0,30 0,81	0,81 1,35	0,43 0,58
4	A:10.12.65 E:19.12.65	2,83 3,00	0,69 0,54	0,51 0,52	0,37 0,50	1,26 1,29	0,53 0,35
	A:23.12.65 E: 5. 1.66	3,10 2,19	0,81 1,09	0,41 0,68	0,34 0,73	1,22 0,96	0,31 0,55

Tab. 3a, 3b.

Trägertiere:

a.Relative Prozent.

n		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	50,79	13,53	7,63	5,71	16,09	6,34
	A: $\sigma\pm$	4,14	2,22	1,01	1,04	3,39	1,66
	E: M	36,44	15,22	7,74	11,85	18,67	8,07
	E: $\sigma\pm$	7,83	3,98	2,80	2,38	2,51	2,00
	t	4,80	1,14	0,09	6,39	2,53	3,46
	3t	14,40	3,42	0,27	19,17	7,59	10,38

b.Grammprozent.

n		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	3,14	0,84	0,47	0,35	1,00	0,39
	A: $\sigma\pm$	0,25	0,14	0,06	0,06	0,23	0,10
	E: M	2,24	0,94	0,60	0,74	1,16	0,50
	E: $\sigma\pm$	0,48	0,25	0,10	0,15	0,15	0,12
	t	4,86	1,07	3,61	3,25	2,19	3,67
	3t	14,58	3,21	10,83	9,75	6,57	11,01

Tab. 4a, 4b.

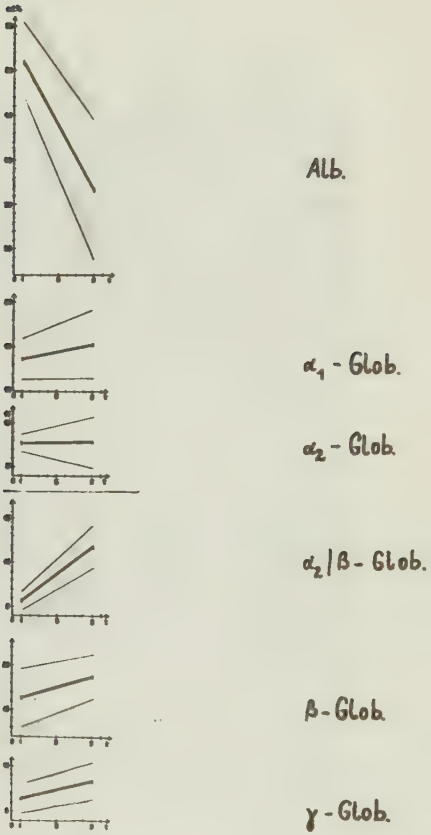


Abb. 7: Serumpherogramm der tumortragenden Ratte.

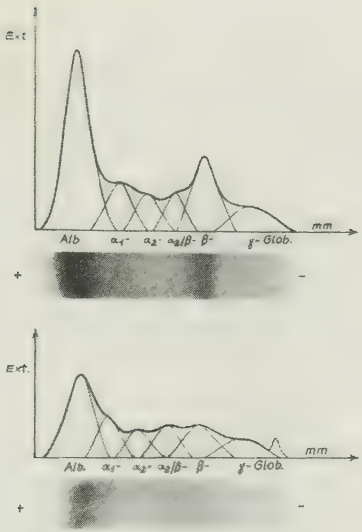


Abb. 8: Papierelektrophorese
oben: der normalen Ratte
unten: der tumortragenden Ratte

Papierelektrophoresen.

Mit Anti-DNS behandelte Ratten(kurzfristige Behandlung;)

a.Relative Prozent:

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A:18.12.65	41,67	12,92	14,58	7,50	13,33	10,00
	E:10. 1.66	33,68	17,37	13,26	8,42	16,31	11,50
2	A:18.12.65	55,60	10,42	7,33	6,95	13,90	5,79
	E:13. 1.66	47,01	11,98	6,45	5,99	19,35	9,20
3	A:18.12.65	50,19	12,74	10,78	7,06	14,13	5,20
	E:13. 1. 66	33,21	14,12	11,45	8,01	20,99	12,21
4	A:18.12.65	49,30	11,85	9,37	7,39	15,62	5,55
	E:17. 1.66	30,13	23,58	14,41	9,61	17,47	4,80
5	A:18.12.65	52,71	11,18	8,94	7,03	13,01	7,03
	E:17. 1.66	37,76	17,55	12,23	11,70	15,96	4,79

b.Grammprozent:

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A:18.12.65	2,58	0,80	0,90	0,46	0,83	0,62
	E:10. 1.66	1,89	0,97	0,74	0,47	0,91	0,64
2	A:18.12.65	3,45	0,64	0,45	0,43	0,86	0,36
	E:13. 1.66	2,63	0,67	0,36	0,33	1,08	0,52
3	A:18.12.65	3,11	0,79	0,67	0,44	0,88	0,32
	E:13. 1.66	1,86	0,79	0,64	0,45	1,17	0,68
4	A:18.12.65	3,06	0,80	0,58	0,46	0,93	0,34
	E:17. 1.66	1,69	1,32	0,81	0,54	0,98	0,27
5	A:18.12.65	3,27	0,69	0,55	0,43	0,81	0,43
	E:17. 1.66	2,11	0,98	0,66	0,65	0,89	0,27

Tab. 5a, 5b.

Mit Anti-DNS behandelte Ratten(kurzzeitige Behandlung)

a.Relative Prozent.

n		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	49,89	12,02	10,02	7,19	14,04	6,71
	$\sigma_{\pm}$	5,21	1,14	2,74	0,24	0,99	1,96
	B: M	36,36	16,92	11,56	8,75	18,02	8,50
	$\sigma_{\pm}$	6,54	4,39	3,07	2,10	2,12	3,56
	t	7,59	2,59	2,23	1,68	4,74	1,37
	3t	22,77	7,77	6,69	5,04	14,22	4,11

b.Grammprozent.

n		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	3,09	0,74	0,63	0,44	0,86	0,41
	$\sigma_{\pm}$	0,32	0,07	0,17	0,02	0,04	0,13
	B: M	2,04	0,95	0,65	0,49	1,01	0,47
	$\sigma_{\pm}$	0,36	0,25	0,17	0,12	0,12	0,20
	t	15,00	2,00	1,54	1,00	3,00	0,86
	3t	45,00	6,00	4,62	3,00	9,00	2,58

Tab. 6a, 6b.

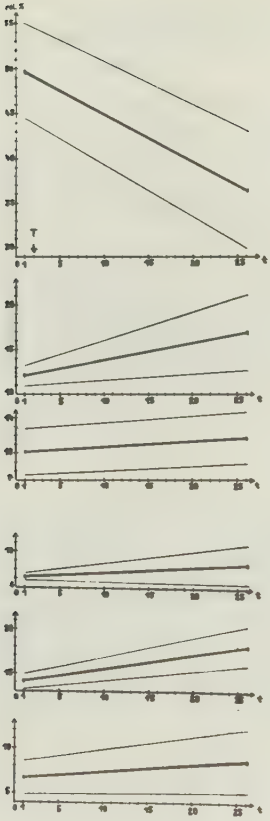


Abb. 9: Serumpherogramm der kurzfristig mit Anti-DNS vorbehandelten, tumortragenden Ratte.

Papierelektrophoresen.

Mit Anti-DNS behandelte Ratten(langzeitige Behandlung)

a.Relative Prozent:

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 4.1.66	47,68	10,53	8,05	6,50	18,27	8,48
	E:17.1.66	36,98	13,54	13,02	10,94	16,67	8,85
2	A: 4.1.66	44,06	12,46	8,69	6,09	17,68	11,01
	E:17.1.66	31,11	16,67	10,00	10,55	16,11	15,55
3	A: 4.1.66	46,87	10,33	11,44	6,27	14,39	10,70
	E:17.1.66	31,11	14,44	12,78	5,55	17,78	18,33
4	A: 4.1.66	45,71	12,38	11,11	7,72	17,14	6,03
	E:17.1.66	28,74	14,37	8,38	8,98	20,96	18,56
5	A: 4.1.66	54,74	10,58	9,12	6,40	14,96	4,38
	E:17.1.66	31,79	16,41	10,77	9,74	16,91	14,36

b.Grammprozent:

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 4.1.66	2,96	0,65	0,50	0,40	1,13	0,56
	E:17.1.66	2,07	0,76	0,73	0,61	0,93	0,49
2	A: 4.1.66	2,73	0,77	0,54	0,38	1,10	0,68
	E:17.1.66	1,74	0,93	0,56	0,59	0,90	0,87
3	A: 4.1.66	2,90	0,64	0,71	0,39	0,89	0,66
	E:17.1.66	1,74	0,81	0,71	0,31	0,99	1,03
4	A: 4.1.66	2,83	0,77	0,69	0,47	1,06	0,37
	E:17.1.66	1,61	0,80	0,47	0,50	1,17	1,04
5	A: 4.1.66	3,39	0,66	0,56	0,40	0,93	0,27
	E:17.1.66	1,78	0,92	0,60	0,54	0,95	0,80

Tab. 7a, 7b.

Mit Anti-DNS behandelte Ratten(langzeitige Behandlung)

a.Relative Prozent.

n		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	47,81	11,26	9,68	6,58	16,49	8,12
	A: $\sigma\pm$	4,10	1,07	1,51	0,60	1,71	2,89
	E: M	31,95	15,09	10,99	9,15	17,69	15,13
	E: $\sigma\pm$	3,04	1,38	1,95	2,15	1,92	3,94
	t	12,89	9,82	2,38	2,79	3,08	5,84
	3t	38,67	29,46	7,14	8,37	9,24	17,52

b.Grammprozent.

n		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	2,96	0,70	0,60	0,41	1,02	0,51
	A: $\sigma\pm$	0,25	0,07	0,09	0,04	0,11	0,18
	E: M	1,79	0,84	0,61	0,51	0,99	0,85
	E: $\sigma\pm$	0,17	0,08	0,11	0,12	0,11	0,22
	t	25,83	12,73	0,42	2,00	7,50	5,67
	3t	77,49	38,19	1,26	6,00	22,50	17,01

Tab. 8a, 8b.

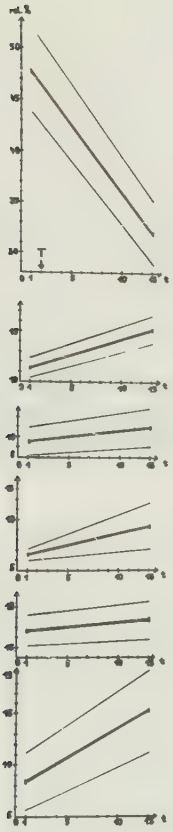


Abb. 10: Serumpherogramm der langzeitig mit Anti-DNS vorbehandelten, tumortragenden Ratte.

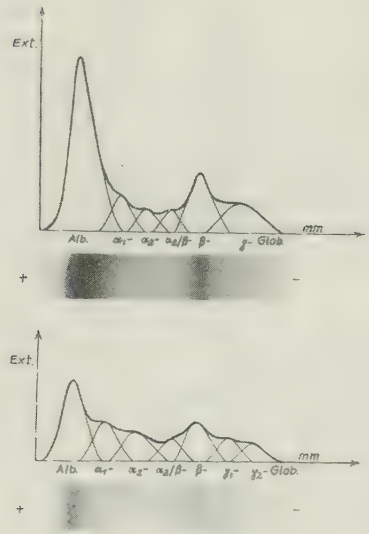


Abb. 11: Papierelektrophorese
oben: der normalen Ratte
unten: der mit Anti-DNS vorbehandelten, tumortragenden Ratte.

eine relative Zunahme nahezu sämtlicher Globulinfraktionen das Serumeiweißbild bestimmte. An der Globulinanreicherung waren insbesondere die α_1, α_2, sowie die α_2/β - Globulinfraktion beteiligt, während die ß - und γ - Globuline in beiden Gruppen nur geringfügige Veränderungen aufwiesen. Dabei waren die Mittelwerte dieser Fraktionen der langzeitig mit Anti-Yoshida-Serum behandelten Tiere völlig im Bereich der Norm gelegen, die der kurzfristig behandelten geringfügig, jedoch nicht statistisch gesichert, angestiegen.(Tab. 9a, b; Tab. 10a, b; Abb. 12; Tab. 11a, b; Tab. 12a, b; Abb. 13, Abb. 14)

V) Immunoelektrophoretische Befunde der Tiere des Hauptversuches.

Bei immunoelektrophoretischer Analyse eines Serums der unbehandelten Ratte unter Verwendung eines spezifischen Rattenserums lassen sich eine Reihe von Praezipitationslinien nachweisen, die, verglichen mit den Praezipitationslinien eines Humanserums im wesentlichen folgende Komponenten erkennen lassen:(vom anodischen Bereich in Richtung Kathode, einschließlich endosmotischer Verziehungen) eine Praealbuminfraktion, eine Albuminkomponente, die dem α_1 - Lipoproteid vergleichbar ist, zwei nahezu beieinander gelegene, jedoch durch geringe Wanderungsdifferenz unterscheidbare Komponenten im Be-

Papierelektrophoresen.

Mit Anti-Yoshida behandelte Ratten(kurzzeitige Behandlung)

a.Relative Prozent:

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	$\alpha_2\beta$	β	γ
1	A: 2.2.66	57,31	9,09	5,93	4,74	13,83	9,09
	E:21.2.66	31,78	16,62	17,20	6,12	18,07	10,20
2	A: 2.2.66	55,07	6,34	6,67	5,22	17,39	9,27
	E:21.2.66	37,73	13,21	12,94	6,74	20,48	8,89
3	A: 2.2.66	58,63	7,49	4,89	5,21	14,98	8,79
	E:21.2.66	38,17	13,85	12,16	8,44	17,23	10,13
4	A: 2.2.66	54,24	9,49	5,42	3,73	17,29	9,83
	E:22.2.66	34,35	17,17	12,21	6,87	19,08	10,31
5	A: 2.2.66	57,14	8,28	7,14	4,57	15,14	7,71
	E:22.2.66	36,21	17,27	10,63	9,30	18,27	8,30
6	A: 2.2.66	57,29	5,21	6,60	4,17	16,67	10,07
	E:23.2.66	35,07	12,85	14,58	9,03	15,62	12,85
7	A: 2.2.66	55,74	7,87	8,20	4,26	15,08	8,85
	E:23.2.66	33,23	10,78	8,98	14,97	20,36	11,68
8	A: 2.2.66	54,95	7,85	7,51	4,44	16,72	8,53
	E:23.2.66	33,96	16,51	8,96	9,90	18,87	11,79
9	A: 2.2.66	56,46	8,12	7,01	5,54	14,76	8,12
	E:23.2.66	36,21	10,00	7,59	14,48	20,00	11,72
10	A: 2.2.66	58,04	7,57	5,99	4,10	14,19	10,09
	E:23.2.66	37,96	14,81	6,94	7,87	20,37	12,04

Tab. 9a.

Papierelektrophoresen.

Mit Anti-Yoshida behandelte Ratten(kurzzeitige Behandlung)

b.Grammprozent:

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	$\alpha_2\beta$	β	γ
1	A: 2.2.66	3,55	0,56	0,37	0,29	0,86	0,56
	E:21.2.66	1,92	0,80	0,82	0,29	0,87	0,49
2	A: 2.2.66	3,41	0,39	0,41	0,32	1,08	0,57
	E:21.2.66	1,81	0,63	0,62	0,32	0,98	0,43
3	A: 2.2.66	3,63	0,46	0,30	0,32	0,93	0,54
	E:21.2.66	1,83	0,66	0,58	0,40	0,83	0,49
4	A: 2.2.66	3,36	0,59	0,34	0,23	1,07	0,61
	E:22.2.66	1,85	0,82	0,59	0,33	0,91	0,49
5	A: 2.2.66	3,54	0,51	0,44	0,28	0,94	0,48
	E:22.2.66	1,74	0,83	0,51	0,45	0,88	0,40
6	A: 2.2.66	3,55	0,32	0,41	0,26	1,03	0,62
	E:23.2.66	1,68	0,62	0,70	0,43	0,75	0,62
7	A: 2.2.66	3,45	0,49	0,51	0,26	0,93	0,55
	E:23.2.66	1,59	0,52	0,43	0,72	0,98	0,56
8	A: 2.2.66	3,41	0,43	0,46	0,27	1,04	0,53
	E:23.2.66	1,63	0,79	0,43	0,47	0,90	0,56
9	A: 2.2.66	3,50	0,50	0,43	0,34	0,91	0,50
	E:23.2.66	1,74	0,48	0,36	0,69	0,96	0,56
10	A: 2.2.66	3,60	0,47	0,37	0,25	0,88	0,62
	E:23.2.66	1,82	0,71	0,33	0,38	0,98	0,58

Tab. 9b.

Mit Anti-Yoshida behandelte Ratten(kurzzeitige Behandlung)

a.Relative Prozent.

n		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
10	A: M	56,49	7,73	6,54	4,60	15,60	9,03
	$\sigma\pm$	1,47	1,23	0,99	0,58	1,30	0,87
	E: M	35,47	14,31	12,22	9,37	18,83	10,79
	$\sigma\pm$	2,16	2,62	3,40	3,07	1,58	1,46
	t	42,04	9,01	5,51	5,02	11,14	4,76
	3t	126,12	27,03	16,53	15,06	33,42	14,28

b.Grammprozent.

n		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
10	A: M	3,50	0,48	0,40	0,28	0,97	0,56
	$\sigma\pm$	0,09	0,08	0,06	0,03	0,08	0,05
	E: M	1,70	0,69	0,54	0,45	0,90	0,52
	$\sigma\pm$	0,11	0,13	0,15	0,15	0,08	0,07
	t	90,00	7,00	2,92	3,78	7,00	2,50
	3t	270,00	21,00	8,76	11,34	21,00	7,50

Tab. 10a, 10b.

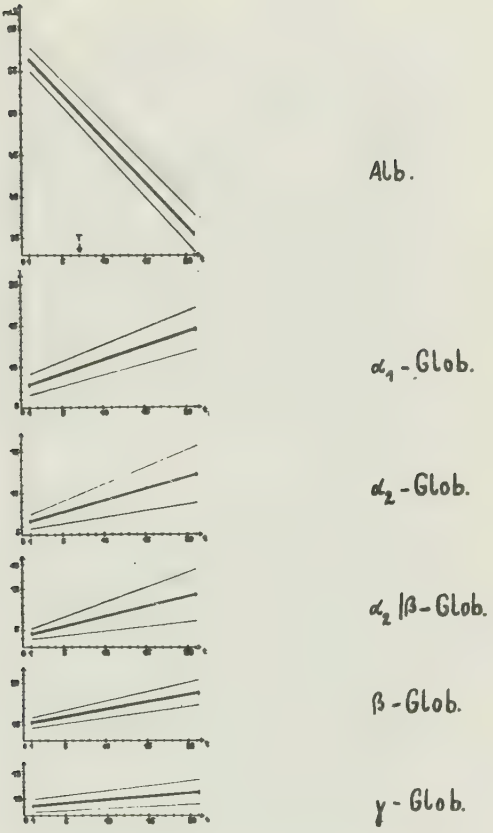


Abb. 12: Serumpherogramm der kurzfristig mit Antitumorserum vorbehandelten tumortragenden Ratten.

Papierelektrophorese.

Mit Anti-Yoshida behandelte Ratten(langzeitige Behandlung)

a.Relative Prozent:

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 4.1.66	49,80	8,56	5,84	4,67	17,90	13,23
	E:26.1.66	33,88	18,60	11,57	7,44	19,01	9,50
2	A: 4.1.66	49,48	8,93	7,90	6,53	17,18	9,97
	E:27.1.66	34,87	19,33	10,08	7,14	18,91	9,66
3	A: 4.1.66	50,59	8,63	5,88	5,49	17,65	11,76
	E: 4.2.66	37,04	14,35	9,72	8,80	14,81	15,28
4	A: 4.1.66	55,41	6,49	4,33	4,76	15,15	13,85
	E: 1.3.66	53,68	7,35	6,62	8,09	15,81	8,45
5	A: 4.1.66	53,76	11,65	5,64	4,13	15,04	9,77
	E: 1.3.66	48,74	7,23	8,49	7,86	16,98	10,69

b.Grammprozent:

Tier-Nr.	Datum	Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
1	A: 4.1.66	3,09	0,53	0,36	0,30	1,11	0,82
	E:26.1.66	1,63	0,89	0,56	0,36	0,91	0,46
2	A: 4.1.66	3,07	0,55	0,49	0,40	1,06	0,62
	E:27.1.66	1,67	0,93	0,48	0,34	0,91	0,46
3	A: 4.1.66	3,14	0,54	0,36	0,34	1,09	0,73
	E: 4.2.66	1,78	0,69	0,47	0,42	0,71	0,73
4	A: 4.1.66	3,44	0,40	0,27	0,29	0,94	0,86
	E: 1.3.66	2,58	0,35	0,32	0,39	0,76	0,41
5	A: 4.1.66	3,33	0,72	0,35	0,26	0,93	0,61
	E: 1.3.66	2,34	0,55	0,41	0,38	0,82	0,51

Tab. 11a, 11b.

Mit Anti-Yoshida behandelte Ratten(langzeitige Behandlung)

a.Relative Prozent.

n		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	51,81	8,85	5,92	5,12	16,58	11,72
	A: $\sigma\pm$	2,63	1,84	1,28	0,93	1,38	1,85
	E: M	41,64	13,37	9,29	7,87	17,10	10,72
	E: $\sigma\pm$	8,98	5,87	1,86	0,64	1,86	2,50
	t	2,65	1,82	6,64	9,17	0,93	1,33
	3t	7,95	5,46	19,92	27,51	2,79	3,99

b.Grammprozent.

n		Albumin	Globuline				
			α_1	α_2	α_2/β	β	γ
5	A: M	3,21	0,55	0,37	0,32	1,03	0,73
	A: $\sigma\pm$	0,16	0,11	0,08	0,05	0,08	0,11
	E: M	2,00	0,64	0,45	0,38	0,82	0,51
	E: $\sigma\pm$	0,43	0,28	0,09	0,03	0,09	0,13
	t	6,72	0,82	5,00	3,00	17,50	2,86
	3t	20,16	2,46	15,00	9,00	52,50	8,58

Tab. 12a, 12b.

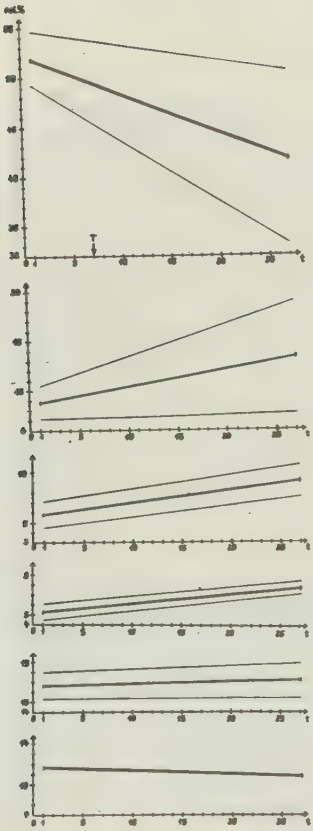


Abb. 13: Serumpherogramm der langzeitig mit Antitumorserum vorbehandelten, tumortragenden Ratten.

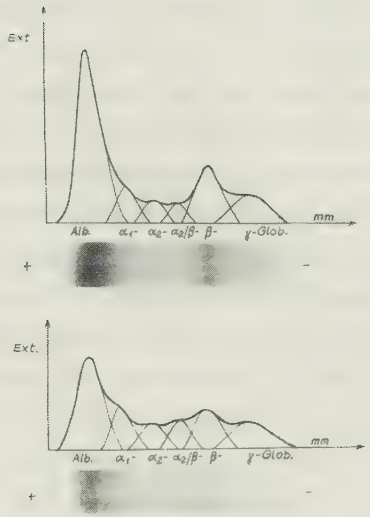


Abb. 14: Papierelektrophorese
oben: der normalen Ratte
unten: der mit Antitumorserum
vorbehandelten, tumortragenden Ratte.

reich vom α_1 - Globulin, eine weitere schwächere Fraktion, die ebenfalls im α_1 - Bereich gelegen ist, aber kanalnäher, eine relativ breit auspraezipitierte Fraktion, die dem α_2 - Bereich zuzuordnen ist, weiterhin eine ebenfalls breit auspraezipitierte Komponente, die dem Siderophilin bzw. einem β_1 - Globulin gleichkommt, sowie einzelne Subfraktionen mit etwa gleicher Wanderungsgeschwindikeit ohne sichere Zuordnung zu einem bekannten Protein des menschlichen Serums. Schließlich findet man eine relativ lang gezogene Praezipitationslinie, die am ehesten einem γ - Globulin entsprechen dürfte, verglichen mit dem menschlichen Serum der γ G - Komponente, sowie Subfraktionen in diesem Bereich, die wohl Immunglobulinen entsprechen.(Abb. 15a)
In der Reihe der lediglich mit Tumorzellen transplantierten Tiere fiel insgesamt eine Reduzierung der Praezipitatintensität auf; die ließ sich verhältnismäßig deutlich auch für die γ - Globuline feststellen. Darüberhinaus zeigten sich in diesem Bereich Aufsplitterungsphänomene des γ - Praezipitats.(Abb. 15b)
Unter den Praezipitatmustern aus der Gruppe der mit Anti-DNS behandelten Tiere fiel zunächst eine Verstärkung der Praezipitate des α_1 - Bereiches und der γ - Subfraktionen auf, darüberhinaus ließ sich im γ - Globulinbereich eine Spornbildung bzw. Auf-

splitterung an dem γ - Praezipitat erkennen.(Abb. 15c) Auch zeigte sich im Bereich der γ - Subfraktion wenigstens eine zusätzliche Komponente, die im Normalserum nicht aufgezeigt werden konnte.

In der Gruppe der mit spezifischem Antiserum behandelten und transplantierten Tiere konnten lediglich quantitative Änderungen im Ausmaß der Praezipitatbildungen aufgezeigt werden, wobei vor allem eine breitere Praezipitation der γ - Globuline in Erscheinung trat. Auch die im schnell wandernden α - Bereich beschriebenen Fraktionen zeigten eine Anreicherung ihrer Konzentration (Praezipitationsüberschußphänomene) und außerdem eine Änderung in ihrer Position, d.h. Wanderungsgeschwindigkeit.(Abb. 15d)

VI) Hämagglutinationsergebnisse.

In der Gruppe der Trägertiere konnte weder vor Transplantation noch am Ende des Versuches eine positive Reaktion der Rattenseren gegen den spezifischen Tumor aufgezeigt werden.

In der Gruppe der mit Anti-DNS behandelten und außerdem transplantierten Ratten war in der Versuchsanordnung der Rattenseren gegen den spezifischen Tumor in keinem Fall eine positive Reaktion nachzuweisen. Dagegen erwies sich die Hämagglutinationsreaktion der Rattenseren gegen Kaninchenserum (als Trägerserum der DNS-Antikörper) als stark positiv. (Titer 1:256)

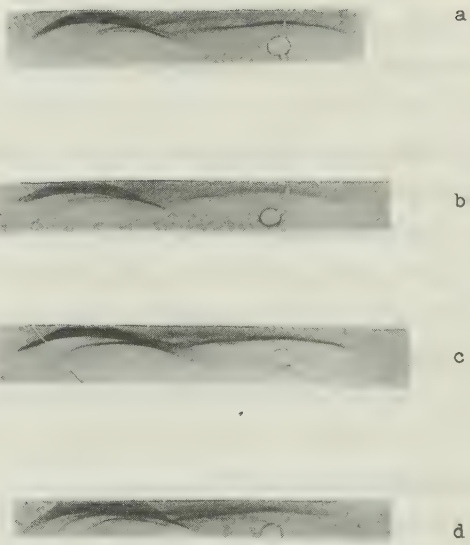


Abb. 15: Immunoelektrophoresen der Rattenseren.
a) normales Rattenserum.
b) Serum der tumortragenden Ratte.
c) Serum der mit Anti-DNS vorbehandelten, tumortragenden Ratte.
d) Serum der mit Antitumorserum vorbehandelten, tumortragenden Ratte.

Die gleichen Verhältnisse ergaben sich für die letzte Versuchsreihe und zwar sowohl für die Untergruppe der kurzfristig behandelten, als auch für die langfristig mit Antitumorserum behandelten Ratten: auch hier waren die Agglutinationsreaktionen des Serums der Trägertiere gegen Tumorextrakt alle negativ, während die Reaktion gegen das Kaninchenserum in allen Fällen mit Titerwerten zwischen 1:256 bis 1:1024 sich als stark positiv erwies.(Tab. 13)

VII) Ergebnisse der Praezipitationsreaktionen.

Die Ergebnisse der zweidimensionalen Immunodiffusion nach OUCHTERLONY entsprechen im wesentlichen den Befunden der Hämagglutinationsreaktionen, d.h. es ergab sich bei Ansatz der Rattenseren gegen den transplantierten Tumorextrakt in keiner Gruppe und in keinem Einzelfall eine positive Praezipitatbildung. Dagegen konnte in all den Versuchsgruppen, in welchen Antiseren appliziert wurden, positive Praezipitationsreaktionen der Rattenseren gegen das immunkörpertragende Impfserum aufgezeigt werden.(Abb. 16, Tab. 13)

VIII) Ergebnisse der fluoreszenzoptischen Untersuchungen.

Die fluoreszenzoptischen Untersuchungen mit dem gepoolten Rattenserum der tumortragenden Tiere ergaben eine schwache Fluoreszenz des gesamten Gewebes ohne stärkere Intensitätsschwankungen.

Bei Verwendung des Antitumorserums vom Kaninchen

		Hämagglutination		Präzipitation	
		Gegen Tumor	Gegen Kaninchenserum	Gegen Tumor	Gegen Kaninchenserum
Trägertiere	Ausgangswert	ø	-	ø	-
	Endwert	ø	-	ø	-
Mit Anti-DNS behandelte Ratten (kurzzeitig)	Ausgangswert	ø	ø	ø	ø
	Endwert	ø	1:256	ø	+
Mit Anti-DNS behandelte Ratten (langzeitig)	Ausgangswert	ø	ø	ø	ø
	Endwert	ø	1:256	ø	+
Mit Anti-Tu behandelte Ratten (kurzzeitig)	Ausgangswert	ø	ø	ø	ø
	Endwert	ø	1:512	ø	+
Mit Anti-Tu behandelte Ratten (langzeitig)	Ausgangswert	ø	ø	ø	ø
	Endwert	ø	1:1024	ø	+

Tab. 13.

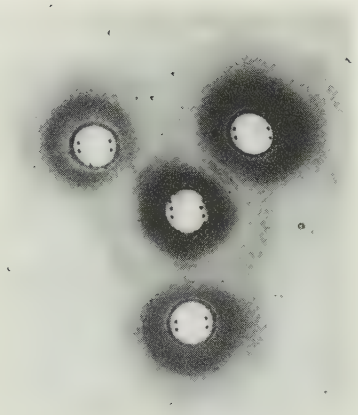


Abb. 16: Ergebnis der zweidimensionalen Immunodiffusion nach OUCHTERLONY bei Ansatz der Rattenseren gegen das immunkörpertragende Impfserum vom Kaninchen.

zeigte sich eine deutliche Nukleoplasmafluoreszenz der infiltrierenden Tumorzellen, in Einzelfällen schien auch der Plasmasaum stärker aufzuleuchten. Die mit dem Kaninchenkontrollserum versetzten Präparate zeigten keine oder nur schwache Fluoreszenz, hier vorwiegend des Kern-Plasmasaumes.(Abb. 17)

Diskussion.

Bei dem vorliegenden Tumor handelt es sich um ein Sarkom, das mit besonders gutem Wachstumserfolg im Bereich der Nackenmuskulatur der Ratte anzugehen pflegt. Entsprechend der im elektrischen Feld wanderungsfähigen Proteine lassen sich nach Homogenisierung insgesamt 8 verschiedene Eiweißkörper differenzieren, wobei der Pherogrammtyp, verglichen mit einem menschlichen Serum, durch nur geringe Konzentration an schnell wandernden Proteinen, vom Typ der Albumine und α_1 -Globuline, und durch relativ starke Anreicherung von Globulinen mit der Wanderungsgeschwindigkeit von β_1 - und β_2 - Globulinen ausgezeichnet ist. Die hier erhobenen Befunde, sowohl bei agar- als auch bei papierelektrophoretischer Trennung, entsprechen früheren eigenen (22), sowie weitgehend auch den in der Literatur mitgeteilten Ergebnissen.(56) Nach vorläufigen eigenen Erfahrungen entspricht das Proteinverteilungsmuster dieses Sarkoms dem Grundtyp des mesenchymalen Tumors. Das Pherogramm wird aber z.T. sicher auch durch Bei-

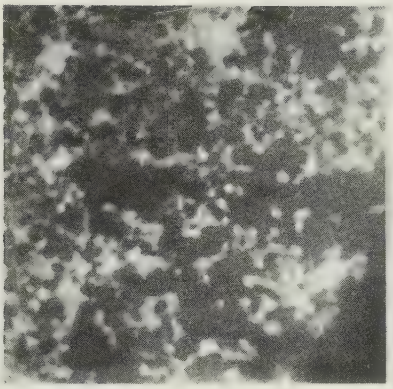


Abb. 17: Ergebnisse der Fluoreszenzversuche an Tumorschnitten unter Verwendung eines fluoreszeierten Antitumorserums vom Kaninchen.

mengungen von Hämoglobin, das bekanntlich im ß - Globulinbereich transportiert wird, mitbestimmt.
Die am Auftragstrich nachweisbaren, nicht gewanderten Proteine (intensive Amidoschwarzfärbung) entsprechen wahrscheinlich bindegewebigen Tumoranteilen, die entweder schwer aufschließbar sind oder die infolge ihrer makromolekülaren Struktur bzw. ihrer ungenügenden Dissoziierbarkeit der Elektrophorese nicht unterworfen wurden.
Die bei der Gewinnung der Antiseren im Kaninchenversuch erhobenen Befunde entsprechen im wesentlichen den bekannten Gesetzmäßigkeiten der Immunologie, wie sie im übrigen auch in früheren eigenen Arbeiten (19, 38, 53) mit den verschiedensten Proteinantigenen erzielt werden konnten und wie sie bei Immunisierungsprozessen regelmäßig nachgewiesen werden.(31, 50) Dies bezieht sich sowohl auf den Nachweis agglutinierender als auch praezipitierender Antikörper nach einer bestimmten Latenzzeit, als auch auf die Dysproteinämie mit den Zeichen des akuten und später auch des chronischen Entzündungs- bzw. Infektabwehrtyps. Nicht eindeutig zu klären ist die Beobachtungstatsache, daß bei Sensibilisierung mit DNS praktisch nur agglutinierende Antikörper nachweisbar waren, während bei Verwendung des Tumorextraktes sowohl agglutinierende als auch praezipitierende Immunkörper nachgewiesen werden konnten. Dabei war aufgefallen, daß offenbar die Agglutinations-

reaktion früher (2. Kontrolle) positiv ausfiel, während die Praezipitatbildung erst ab 3. Kontrolle sichtbar wurde. Es muß offen bleiben, ob es sich bei diesen Phänomenen um verschiedene Qualitäten von zirkulierenden Antikörpern handelt, oder lediglich um Fragen der Konzentration.

Mit Bezug auf die Ergebnisse bei unvorbehandelten tumortragenden Ratten kann zunächst bestätigt werden, daß der verwendete Tumor bei allen Tieren ausnahmslos angegangen ist, also von den Tieren toleriert wurde, und daß die Tumoren relativ rasch an Größe zugenommen haben und offenbar erhebliche Auswirkungen auf den Eiweißhaushalt der erkrankten Ratten verursacht haben. Dies wird einerseits durch die relativ kurze Überlebensdauer der Ratten, andererseits durch die tiefgreifenden Serumproteinveränderungen bekräftigt. Ob es sich hierbei um Nekrosen mit sekundärer Einschmelzung, also um eine reine Infektreaktion, handelt, oder um direktes Tumormaterial, das bei Zerfall in die Blutbahn gelangt ist, wäre noch zu klären.

Der Immunoelektrophoresebefund entspricht den Angaben der einschlägigen Literatur (3, 54). Die Phänomene, wie sie bei der Gruppe der mit Anti-DNS behandelten Tiere festgehalten wurden, können als Folge einer stattgehabten Sensibilisierung mit dem Trägerserum bzw. als Resultierende einer tiefgreifenden Proteinstoffwechselstörung angenommen werden, die sowohl auf

die Sensibilisierung als auch auf das Tumorwachstum zurückgeführt werden kann. Ebenso sind wohl die Veränderungen der beiden anderen Gruppen zu deuten. Die Serenbefunde bedürfen jedoch einer weiteren Klärung durch spezielle Untersuchungen unter entsprechenden Versuchsbedingungen. Da es sich hier mehr oder weniger um einen Nebenbefund handelt, sind diese Phänomene weiteren Untersuchungen nicht unterzogen worden. Die fluoreszenzoptischen Ergebnisse bestätigen einerseits die Tatsache, daß das Serum der tumortragenden Tiere offenbar keine tumorspezifischen bzw. gewebsspezifischen Antikörper enthält, andererseits stimmen die Befunde überein mit der durch Agglutination und Praezipitation nachgewiesenen spezifischen Tumorantikörperproduktion im sensibilisierten Kaninchen.
Die Ergebnisse haben gezeigt, daß in allen Gruppen nach Transplantation und Angehen des Tumors zwar insgesamt tiefgreifende Veränderungen der Serumproteine mit starker Verminderung der Albumine und Anreicherung der α - Globuline zustande kommen, daß jedoch keine Sensibilisierungseffekte durch den Tumor festzustellen sind. Antikörperbildung erfolgt lediglich in den Fällen, in welchen durch die Vorbehandlung mit Anti-DNS- oder Antitumorserum ein heterologes Serum, in dem Falle ein Kaninchenserum, eine spezifische Antikörperbildung induziert. Diese Tatsache der immunologischen Indifferenz des übertragenen Tumors, dessen

Protein- bzw. Antigenmuster w.o. gezeigt, von dem eines normalen Rattenserums deutlich abweicht, bedarf zweifellos einer gezielten Analyse im Vergleich zu Rattenseren und Rattenmuskulatur. Aus den Ergebnissen der Literatur mit ähnlicher Versuchsanordnung gehen unterschiedliche Ergebnisse hervor.(1, 6, 7, 11, 12, 16, 17, 28, 30, 33, 34, 40, 43, 57, 58, 60, 61). Demgegenüber überrascht es unseres Erachtens nicht, daß ein einmal tolerierter Gewebskomplex, hier der Yoshidatumor, trotz seiner unterschiedlichen Eiweißkomposition immunologisch den Proteineigenschaften des Trägerorganismus angeglichen ist, was im übrigen auch die Tatsache beweist, daß der Tumor nicht abgestoßen, sondern mühelos in den Organstoffwechsel mit einbezogen wird. Bekanntlich werden selbst homologe Proteine bzw. Zellverbände durch die Entwicklung von Isoantikörpern gesetzmäßig abgestoßen bzw. in eine Antigen-Antikörper-Reaktion verwickelt. Dabei scheint die Differenzierung der Spezies eine gewisse Rolle mitzuspielen. Sicher spielen bei den in der Literatur mitgeteilten Erfahrungen die Art des Tumors bzw. die tumortragenden Spezies eine wesentliche Rolle. Bekanntlich gibt es Tumorformen, die für die eine oder andere Spezies absolut heterolog sind und infolgedessen nicht ohne weiteres transplantiert werden können. Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen steht allerdings fest, daß in den Fällen, in welchen Tumorzellen

von einem Wirt aufgenommen werden und ihr autonomes Wachstum ungehindert entwickeln können, eine antigene Wirksamkeit dieser Tumorzellen auf den Trägerorganismus nicht objektivierbar wird. Dies findet im übrigen Paralelle in der Humanpathologie, wobei bislang der Nachweis spezifischer zirkulierender Antikörper gegen sich entwickelnde maligne Tumoren nicht gelang. Für die Wahrscheinlichkeit einer absoluten immunologischen Toleranz gegenüber transplantablen Tumoren sprechen unseres Erachtens auch die Ergebnisse der verschiedenen Gruppen, in welchen entweder mit einem Anti-DNS- oder mit einem spezifischen Antitumorserum mit unseres Erachtens ausreichender Titerhöhe das Tumorwachstum nicht unterdrückt werden konnte. Die beobachteten Verzögerungen im Wachstum des Tumors bzw. die effektiv längere Überlebenszeit und die Rückbildung des Tumors bei zwei Tieren verlockt zwar zu der Schlußfolgerung einer immunologischen Hemmung der Wachstumstendenz bzw. einer sekundären Zerstörung des Zellmaterials, eine sichere Beweisführung scheint uns allein in dem Retardierungsmoment nicht gegeben zu sein. Es ist vielmehr zu diskutieren, daß durch die Aktivierung des Mesenchyms infolge der Applikation heterologer Eiweißkörper (Kaninchenserum) eine Hemmung des autonomen Geschwulstwachstums im Sinne einer Kompensationsmaßnahme dargestellt wird.

Zusammenfassung.

Es waren insgesamt 30 Albinoratten im Versuch. Diese wurden dabei im Rahmen verschiedener Versuchsanordnungen in 3 Gruppen zu je 5, 10 und 15 Tieren aufgeteilt.

Die papierelektrophoretischen Untersuchungen der Rattenseren zeigten bei allen 3 Gruppen tiefgreifende Dysproteinämien mit Hypalbuminämie.

Die Immunelektrophorese zeigte eine weitgehende Störung im Proteinstoffwechsel, die sowohl auf einen Sensibilisierungsprozeß als auch auf Tumorwachstum zurückgeführt werden könnte.

Die Hämagglutinations- und Praezipitationsreaktionen ergaben bei Ansatz der Rattenseren gegen den transplantierten Tumor keinen Hinweis auf humorale Antikörper. Lediglich in den Versuchsgruppen, in welchen immunkörpertragendes Kaninchenserum appliziert wurde, konnten positive Hämagglutinations- bzw. Praezipitationsreaktionen der Rattenseren gegen das Kaninchenserum aufgezeigt werden.

Fluoreszenzoptisch ließ sich bei dem Versuch mit dem gepoolten Rattenserum keine spezifische Fluoreszenz nachweisen. Dagegen zeigte das Nukleoplasma der infiltrierten Tumorzellen bei Verwendung des Antitumorserums vom Kaninchen eine deutliche Fluoreszenz.

Literaturverzeichnis.

1) AIZAWA, M. and C. M. SOUTHAM.
Serum antibodies following homotransplantation of human cancer cells. Fourth tissue homotransplantation conference.
Ann. N. Y. Acad. Sc. 87, 293, (1960).

2) BADE, W. F., I. L. SPAR, R. L. GOODLAND, and D. E. WOLFE.
In vivo and in vitro studies of labeled antibodies against rat kidney and Walker carcinoma.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 89, 564, (1955).

3) BERG, G., K. H. KIMBEL und F. SCHEIFFARTH.
Zur Schwankungsbreite der Serumeiweißfraktionen normaler Versuchstiere.
Naturwiss. 42, 51, (1955).

4) BICKIS, I. J., J. H. QUASTEL, and S. I. VAS.
Effects of Ehrlich ascites antisera on the biochemical activities of Ehrlich ascites carcinoma cells in vitro.
Cancer Research, 19, 602, (1959).

5) BITTNER, J. J., H. M. HIRSCH, J. D. ROSS, and R. GABRIELSON
Host-induced changes in the mouse mammary tumor agent from transplanted tumors as determined by neutralization studies.
Cancer Research, 19, 918, (1959).

6) BITTNER, J. J., and D. T. IMAGAWA.
Effect of the source of the mouse mammary agent upon neutralization of the agent with antisera.
Cancer Research, 15, 464, (1955).

7) BJÖRKLUND, B.
Antigenicity of malignant and normal human tissues by gel diffusion techniques.
Intern. Arch. Aller. Appl. Immunology, 8, 179, (1956)

8) BJÖRKLUND, B., and V. BJÖRKLUND.
Antigenicity of pooled human malignant and normal tissues by cyto-immunological technique: Presence of an insoluble, heat-labile tumor antigen.
Intern. Arch. Aller. Appl. Immunology 10, 153, (1957).

9) BJÖRKLUND, B., G. LUNDBLAD, and V. BJÖRKLUND.
Antigenicity of pooled human malignant and normal tissues by cyto-immunological technique.
II. Nature of tumor antigen.
Intern. Arch. Aller. Appl. Immunology 12, 241, (1958)

10) BOYDEN, S. V.
The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera.
J. exp. Med. 93, 107, (1951).

11) BROWN, E. R., and J. BITTNER.
Fluorescent antibody reaction against the mouse mammary tumor agent.
Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 106, 303, (1961).

12) BURROWS, D.
Schultz-Dale test for detection of specific antigen in sera of patients with carcinoma.
Brit. M. I. 1, 368, (1958).

13) COONS, A. H., H. I. CREECH, and R. N. JONES.
Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group.
Proc. Soc. exp. Biol.(N. Y.) 47, 200, (1941).

14) COONS, A. H., and M. KAPLAN.
Localisation of antigen in tissue cells.
J. exp. Med. 91, 1, (1950).

15) CSABA, G. und I. TÖRÖ.
Ein neues Verfahren zur Krebsdiagnostik.
Z. Krebsforsch. 62, 481, (1957/59).

16) FEO, F., P. de GREGORIO, and L. GABRIEL.
Action of antibodies on metabolism of normal and tumor cells in vitro.
Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 109, 515, (1962).

17) FINK, M. A., P. SMITH, and M. V. ROTHLAUF.
Antibody production in BALB/c mice following injection of lyophilized tumor S 621 in Freund's adjuvant.
Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 90, 590, (1955).

18) FINNEY, J. W., E. H. BYERS, and R. H. WILSON.
Studies in tumor autoimmunity.
Cancer Research 20, 351, (1960).

19) FISCHER, R. und F. WULEN.
Die Dysproteinämie im Experiment. Vergleichende Untersuchungen beim Meerschweinchen, Kaninchen und der Ratte,
Z. exp. Med. 130, 538, (1956).

20) FRIEDEWALD, W. F., and J. G. KIDD.
Induced antibodies that react in vitro with sedimentable constituents of normal and neoplastic tissue cells presence of the antibodies in the blood of rabbits carrying various transplanted cancers.
J. exp. Med. 82, 21, (1945).

21) FROHBERG, H. und E. MATTHIES.
Untersuchungen zur Erzeugung von Tumorresistenz gegenüber Impfgeschwülsten.
Z. Krebsforsch. 61, 31, (1956/57).

22) GÖTZ, H., H. BAENKLER und F. SCHEIFFARTH.
Zur Charakterisierung von Tumorproteinen.
Im Druck.

23) GÖTZ, H, G. BERG und F. SCHEIFFARTH.
Methodische Grundlagen der Immunoelektrophorese.
Z. Immun.-forsch. 114, 72-84, (1957).

24) GOLDNER, H., A. E. BOGDEN, and P. M. APTEKMANN.
Immunity against a transplantable ascites tumor of spontaneous origin in an inbred rat strain.
J. Immun. 82, 520, (1959).

25) GOLDSTEIN, G., I. SLIZYS, and M. R. CHASE.
Studies on fluorescent antibody staining.
I. Nonspezific fluorescence with fluorescein-coupled sheep antirabbit globulins.
J. exp. Med. 144, 89, (1961).

26) GORER, P. A., and N. KALISS.
The effect of isoantibodies in vivo on three different transplantable neoplasm in mice.
Cancer Research 19, 824, (1959).

27) GRABAR, P. und C. A. WILLIAMS.
Méthode permettant l'étude conjugueé des propriétes électrophorétiques et immunochimiques d'un mélange de protéine; application an serum sanguin.
Biochim. Biophys. Acta 10, 193, (1956).

28) GRAHAM, J. B., and R. M. GRAHAM.
Antibodies elicited by cancer in patients.
Cancer Research 8, 409, (1955).

29) GRASSMANN, W., K. HANNIG und M. KNEDEL.
Dtsch. med. Wschr. 333, (1951).

30) GROSS, W. O. und E. SPECHTMEYER.
Der Agglutinationstest zur Antigenbestimmung von Zellstämmen.
Z. Krebsforsch. 65, 565, (1963).

31) HEIDELBERGER, M.
Nature (Brit) 138, 165, (1936).

32) HENNING, N.
Laboratoriumsdiagnostik.
Urban-Schwarzenberg, München-Berlin, (1960).

33) KALISS, N.
Immunological enhancement of tumor homografts in mice. A review.
Cancer Research 18, 992, (1958).

34) KORNGOLD, L.
The distribution of human tissue antigens in five human tumors grown in rats or hamsters.
Cancer Research 16, 956, (1956).

35) KORNGOLD, L., and G. v. LEEUVEN.
Immunological and electrophoretic studies of human tissue and tumor antigens.
Cancer Research 17, 775, (1957).

36) KORNGOLD, L., and R. LIPARI.
Tissue antigens of human tumors grown in rats, hamsters, and eggs.
Cancer Research 15, 159, (1955).

37) LEWI, E., and A. M. SCHECHTMAN.
The preparation in immunologically tolerant rabbits of antisera against the Ehrlich ascites tumor.
Cancer Research 23, 1566, (1963).

38) LOCHER, R.
Das elektrophoretische Serumeiweißbild der Krebskrankheit.
Diss. Bern 1951

39) MAKARI, J. G.
Detection of antigens in sera of patients with neoplastic disease by Schultz-Dale test.
Brit. M. I. 2, 358, (1958).

40) MANN, L. S., and W. H. WELKER.
A spezific precipitin antiserum for carcinoma protein.
Am. J. Cancer 39, 360, (1940).

41) MAYERSBACH, H. v.
Immunhistologische Methoden in der Histochemie.
In: W. Graumann und K. Neumann, Handbuch der Histochemie S. 59b, Stuttgart Gustav Fischer 1958.

42) McCREDIE, J. A., E. R. BROWN, and W. H. COLE.
Immunologic treatment of tumors.
Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 100, 31, (1959).

43) MILGROM, F.
A short review of immunological investigation on cancer.
Cancer Research 21, 862, (1961).

44) OUCHTERLONY, O.
Antigen-antibody reaction in gels. IV. Types of reactions in coordinated systems of diffusion.
Acta Path. et Microbiol. Scandinav. 32, 231, (1953).

45) PIKOVSKI, M., and M. SCHLESINGER.
Natural agglutinins in rat sera against cells of mouse tumors differing in their transplantability to pretreated rats.
Cancer Research 19, 227, (1960).

46) REIF, A. E., and H. J. NORRIS.
A system for quantitative determination of cytotoxic activity of antisera to ascites tumor cells.
Cancer Research 20, 1235, (1960).

47) RÉVÉSZ, L.
Effects of lethally demaged tumor cells upon the developement of admixed viable cells.
J. Nat. Cancer Inst. 20, 1159, (1958).

48) RITTER, S.
Über eine immunologische Untersuchung zur Diagnostik der Krebskrankheiten.
Z. Krebsforsch. 65, 101, (1962).

49) RIVA, G.
Das Serumeiweißbild.
Verlag Hans Huber, Bern u. Stuttgart, (1957).

50) SCHEER van der, J., R. W. G. WYKOFF, and F. H. CLARKE.
a) J. Immunol. (Am) 39, 65, (1940)
b) J. Immunol. (Am) 40, 173, (1941)

51) SCHEIDEGGER, J. J.
Une micromethode de l'immuno-electrophorése.
Intern. Arch. Aller. 7, 103, (1955).

52) SCHEIFFARTH, F., G. BERG und H. GÖTZ.
Papierelektrophorese in Klinik und Praxis.
Urban-Schwarzenberg, München-Berlin, (1962).

53) SCHEIFFARTH, F. und W. FRENGER.
Die Verwendbarkeit der passiven oder indirekten Hämagglutinationsreaktion nach Boyden beim Nachweis von Antikörpern.
Blut-Z. Ges. Blutforsch. 2, 102, (1956).

54) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und O. KNELLER.
Weitere statistische Untersuchungen der Serumeiweißverhältnisse beim Meerschweinchen, Kaninchen und der Ratte.
Z. exp. Med. 130, 538, (1956).

55) SCHREK, R., and F. W. PRESTON.
Cytotoxicity of a homologous immune serum to a transplantable rat tumor by a method of unstained cell counts.
Cancer Research 17, 102, (1957).

56) SCHWENKE, K. D.
Vergleichende Untersuchungen löslicher Organproteine an Tumor- und Normalgeweben mit Hilfe der freien Elektrophorese.
Z. Krebsforsch. 68, 112, (1966).

57) SNELL, G. D.
Incompatibility reactions to tumor homotransplants with particular reference to the role of the tumor. A review.
Cancer Research 17, 2, (1957).

58) SOUTHAM, C. M.
Relatioship of immunology to cancer. A review.
Cancer Research 20, 271, (1960).

59) TAKEDA, K.
Studies on the immunological phenomena of Yoshida sarcoma.
Gann. 43, 449, (1952).

60) WITEBSKY, E., N. ROSE, and S. SHULMAN.
Studies of normal and malignant tissue antigens.
Cancer Research 16, 831, (1956).

61) YAGI, Y., and D. PRESSMAN.
Immunologic differences between Murphy-Sturm lymphosarcoma and normal rat lymph nodes.
Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 106, 164, (1961).

62) ZAK, B., and K. M. SUN.
Technique for separation of protein by means of agar-gel electrophoresis.
Am. J. Clin. Path. 29, 69, (1958).

Zum Schluß meiner Arbeit möchte ich an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. Scheiffarth für die Überlassung des Themas sowie für die freundliche Übernahme des Referats meinen herzlichen Dank aussprechen.
Gleichzeitig danke ich Frl. Dr. Götz und Herrn Dr. Warnatz für die technischen Hinweise bei der Anfertigung meiner Arbeit.

Lebenslauf

Am 5. 4. 1942 wurde ich, Karin Günther, als zweites Kind des praktischen Arztes Dr. med. Nikolaus Günther und seiner Ehefrau Edith, geb. Langhoff, in Lodz/Polen geboren. Meine Eltern sowie auch ich besitzen die deutsche Staatsangehörigkeit. 1945 kamen wir auf unserer Flucht vor den Russen nach Neustadt/Waldnaab in Bayern. Von 1948 bis 1952 besuchte ich die Volksschule in Neustadt und trat dann in die Mädchenoberrealschule in Weiden/OPf ein, wo ich 1961 die Reifeprüfung ablegte. Im November 1961 immatrikulierte ich mich an der Universität Erlangen, um Medizin zu studieren; nach dem SS 1962 legte ich dort das Vorphysikum ab, nach dem WS 1963/64 das Physikum.
Außer dem WS 1964/65, in dem ich an der Universität Innsbruck studierte, verbrachte ich meine gesamte Studienzeit an der Universität Erlangen.
Im Frühjahr und Sommer 1967 beabsichtige ich das Medizinische Staatsexamen an der Universität Erlangen abzulegen.

Neustadt/Waldnaab, den 27. 12. 1966

Karin Günther.

Offsetdruck - Fotodruck
Josef Hogl
8520 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz,) Tel. 22990

Offsetdruck - Fotodruck
- J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Telefon 22990 -